

### บทที่ 3

#### อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

##### 3.1 วัสดุดิบ

- บัวบกทั้งต้นสด: โครงการหลวงคอยอินทนนท์ จังหวัดเชียงใหม่
- ปลายข้าวหอมมะลิ: ร้านค้าปลีก ตลาดต้นพะยอม
- เมล็ดข้าวโพดแห้ง: เกษตรกรปลูกข้าวโพด จังหวัดเชียงราย
- น้ำตาลทรายขาว: ตรามิตรผล บริษัท น้ำตาลมิตรผล จำกัด
- น้ำมันพืช: ตราอรุณ บริษัท น้ำมันพืชไทย จำกัด (มหาชน)
- น้ำดื่ม: ห้างหุ้นส่วน จำกัด คลีน แอนด์ เพียว วอเตอร์
- ผงปรุงรสโนริสาหร่าย: บริษัท เอ็น.เอส.ที. ฟู้ด อินกรีเดียนท์ จำกัด

##### 3.2 สารเคมี

- กรดซัลฟิวริก (Sulfuric acid;  $H_2SO_4$ ): Merck, Germany
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide; NaOH): Merck, Germany
- โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium carbonate;  $Na_2CO_3$ ): Merck, Germany
- แคลเซียมคาร์บอเนต (Calcium carbonate;  $CaCO_3$ ): ห้างหุ้นส่วน จำกัด โอ.วี. เคมีเคิล แอนด์ ซัพพลาย
- กรดแกลลิก (Gallic acid): Carlo, Italy
- Folin-Ciocalteu reagent: Merck, Germany
- เฟอรัสคลอไรด์ (Ferrous chloride;  $FeCl_2$ ): Merck, Germany
- เฟอโรซีน (Ferrozine; 3-(2-pyridyl)-5, 6-bis (4-phenyl-sulfonic acid)-1, 2, 4-triazine): Merck, Germany
- DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl): Sigma, USA
- เอทานอล (Ethanol;  $C_2H_5OH$ ): Merck, Germany
- ปีโตรเลียมอีเทอร์ (Petroleum ether): Merck, Germany
- อะซิโตรไนไทรล์ (Acetonitrile;  $CH_3CN$ ): Merck, Germany

### 3.3 อุปกรณ์และเครื่องมือ

- เครื่องอัดไฮดรอลิก (Hydraulic press): Sakaya, model M310 RZ, Thailand (ภาพที่ ก.3 )
- เครื่องบดเนื้อ (Meat mincer): Thailand (ภาพที่ ก.3 )
- ตู้อบลมร้อนแบบไฟฟ้า (Electrical hot air oven): Termaks, Germany (ภาพที่ ก.3 )
- เครื่องอบอินฟราเรดสุญญากาศ (Infrared vacuum dryer) (ภาพที่ ก.3 )
- ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์: ร้านสยามแพค จังหวัดเชียงใหม่
- เครื่องปิดผนึกด้วยความร้อน (Hot sealer): Model TI-450/10, Thailand
- เครื่องบดแบบค้อน (Hammer mill): Crompton, model 2000 Series, England
- เครื่องวัดสี (Minolta colorimeter): Minolta, model CR-300 Series, Japan
- เครื่องแยกขนาด (Test sieve shaker): Octagon, model 200, England
- เครื่องวัดความชื้น (Infrared moisture determination balance): Model FD-620-1, Japan
- เครื่องเอ็กซ์ทรูเดอร์แบบสกรูเดี่ยว (Single screw extruder): Brabender, model 19/20 DN, Germany (ภาพที่ ก.4 )
- เวอร์เนียร์ คาลิเปอร์ (Vernier caliper)
- เครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส (Texture analyzer): Instron, model 5565, USA
- เครื่องกวนสารให้ความร้อน แบบแท่งแม่เหล็ก (Hot plate stirrer): Model C-MAG HS4, Thailand
- ไมโครปิเปต (Micropipette): Nichiryo, Japan
- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง: Ohaus, model TS2KS, USA
- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง: Model AND HR-200, Japan
- เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer): Perkin Elmer, Germany
- เครื่องโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC; High Performance Liquid Chromatography): Agilent, model 1100 series, Germany
- ตู้อบลมร้อน (Hot air oven): Memmert, Germany
- เครื่องผสม (Vortex mixture): Model Genie 2, USA
- เครื่องเขย่า (Shaker): Barnstead, model 3529-1 CE, USA
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath): Memmert, model WB14, Germany

### 3.4 วิธีการวิจัย

#### 3.4.1 ศึกษาคุณภาพทางกายภาพและเคมี ของวัตถุดิบหลักที่ใช้ในการผลิตขนมขบเคี้ยวพองกรอบ

##### 3.4.1.1 การเตรียมวัตถุดิบ วัตถุดิบที่ใช้ 3 ชนิด ได้แก่ เมล็ดข้าวโพดแห้ง ปลายข้าวหอมมะลิ และบ๊วบก ซึ่งมีการเตรียมแตกต่างกัน ดังนี้

ก. ข้าวโพดบดหยาบ นำเมล็ดข้าวโพดแห้งไปคัดเลือกสิ่งเจือปนออก แล้วบดด้วยเครื่องบดแบบค้อน ผ่านตะแกรงที่มีรูขนาด 2.5 มิลลิเมตร (ดัดแปลงจาก สุลาลักษณ์, 2549)

ข. ปลายข้าวหอมมะลิบด คัดเลือกสิ่งเจือปนออก บดด้วยเครื่องบดแบบค้อน ผ่านตะแกรงที่มีรูขนาด 2.5 มิลลิเมตร (ดัดแปลงจาก สุลาลักษณ์, 2549)

ค. บ๊วบก ใช้บ๊วบกทั้งต้นสด ซึ่งประกอบด้วย ราก ลำต้น และใบ นำไปคัดเลือกสิ่งเจือปนออก ล้างทำความสะอาดด้วยน้ำก๊อกไหลผ่าน และแช่ในกรดเปอร์อะซิติก (peracetic) ความเข้มข้น 80 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 1 นาที (Jon, 2003) จากนั้นแปรรูปเป็นบ๊วบก 3 รูปแบบ คือ

1) บ๊วบกทั้งต้นสดบด เตรียมได้จากการหั่นบ๊วบกทั้งต้นสดให้เป็นชิ้นเล็กๆ แล้วบดละเอียดด้วยเครื่องบดเนื้อ

2) น้ำคั้นบ๊วบกสด เตรียมได้จากการนำบ๊วบกทั้งต้นสดบดจากข้อ 1) ไปบีบคั้นด้วยเครื่องอัดไฮโดรลิก แยกเอาเฉพาะของเหลวที่คั้นได้ไปใช้ในการทดลอง

3) บ๊วบกทั้งต้นแห้งบด เตรียมได้จากการนำบ๊วบกทั้งต้นสดไปอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนแบบถาดที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส (นฤมล และ ศศิธร, 2550) แล้วนำไปบดด้วยเครื่องบดแบบค้อน ผ่านตะแกรงที่มีรูขนาด 2.0 มิลลิเมตร

4) ใบบ๊วบกแห้งบด เตรียมได้จากการนำใบบ๊วบกสดไปอบแห้งด้วยเครื่องอบอินฟราเรดสุญญากาศ ที่ความดัน 0.096 บาร์ อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส (พีระพงษ์ และ นัฏฐกัญญา, 2550)

##### 3.4.1.2 การวิเคราะห์คุณภาพของวัตถุดิบ นำวัตถุดิบที่เตรียมได้ทั้งหมด ไปวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ และเคมี เปรียบเทียบกับบ๊วบกทั้งต้นสด โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design: CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และ

เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 คุณภาพต่างๆ ที่วิเคราะห์ ได้แก่

#### 1) การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

- สี นำไปวัดค่าของสีด้วยระบบ L\*C\*h โดยเครื่องวัดสี Minolta chroma meter
- ขนาดอนุภาค โดยร่อนผ่านตะแกรงร่อนขนาด 20 และ 50 เมช ด้วยเครื่องร่อนตะแกรง แล้วคำนวณค่าเป็นร้อยละของขนาดอนุภาค จากน้ำหนักของอนุภาคที่ค้างอยู่บนตะแกรงแต่ละขนาด

#### 2) การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

- ความชื้น โดย Hot air oven (AOAC, 2005)
- เยื่อใยหยาบ โดยวิธีการย่อยด้วยสารละลายกรด และด่าง (AOAC, 2005)
- ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu (Chang *et al.*, 2006)
- ปริมาณสารเอเชียติโคไซด์ ด้วยวิธี HPLC (High Performance Liquid Chromatography) (คัดแปลงจาก Inamdar *et al.*, 1996)
- ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ทำการวิเคราะห์ 2 วิธี คือ ความสามารถในการจับเฟอร์รัสไอออน (Ferrous ion chelating ability) และความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (DPPH radical scavenging activity) (Chang *et al.*, 2006)

### 3.4.2 ศึกษาผลของอายุการเก็บรักษาต่อปริมาณสารเอเชียติโคไซด์ในบับกรูปแบบที่เลือกไว้

นำรูปแบบของบับกที่มีปริมาณสารเอเชียติโคไซด์อยู่สูง ไปเก็บรักษาในถุงอะลูมิเนียมพอลิเอทิลีนสูงสุญญากาศ ที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 เดือน แล้วนำไปวิเคราะห์ปริมาณสารเอเชียติโคไซด์เช่นเดียวกับข้อ 3.4.1

#### 3.4.3 ศึกษารูปแบบที่เหมาะสมของบับกในการผลิตขนมขบเคี้ยวพองกรอบ

ส่วนผสมของแป้งในสูตรพื้นฐานที่ใช้ประกอบด้วยส่วนผสมของข้าวโพดบดหยาบกับปลายข้าวหอมมะลิบด (1:1) ร้อยละ 100 ส่วนผสมอื่นๆ ได้แก่ น้ำตาลทราย น้ำมันพืช และแคลเซียมคาร์บอเนต ร้อยละ 3 2 และ 1 ตามลำดับ (จตุพร, 2550) เดิมบับกรูปแบบต่างๆ ที่ได้จากข้อ 3.3.1 เข้าไปทดแทนส่วนผสมของแป้งร้อยละ 4 แล้วปรับความชื้นให้เป็นร้อยละ 14 บรรจุเก็บไว้ในถุง และรัดปากถุงไว้ประมาณ 1 ชั่วโมง เพื่อให้ความชื้นสม่ำเสมอ ก่อนผ่านเครื่องเอ็กซ์ทรูเดอร์แบบสกรูเดี่ยวที่มีความเร็วในการป้อนวัตถุดิบ 40 รอบต่อนาที ความเร็วรอบสกรู 247 รอบต่อนาที อุณหภูมิส่วนที่ 1 2 และ 3 ของบาร์เรล 120 150 และ 169 องศาเซลเซียส ตามลำดับ รูเปิดหน้าแปลนเป็นรูกลมขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ความเร็ว

ใบมีดหน้าแปลน 160 รอบต่อนาที นำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปอบในตู้อบลมร้อนแบบถาดที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที (จตุพร, 2550) บรรจุผลิตภัณฑ์ลงในถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ ปิดผนึกด้วยความร้อน จากนั้นจึงสุ่มตัวอย่างไปตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ เปรียบเทียบกับการไม่เติมบัวบก โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design: CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 คุณภาพต่างๆ ที่วิเคราะห์ ได้แก่

- สี นำไปวัดค่าของสีด้วยระบบ  $L^*C^*h$  โดยเครื่องวัดสี Minolta chroma meter
- อัตราส่วนการฟองตัว จำนวนจากอัตราส่วนเส้นผ่าศูนย์กลางผลิตภัณฑ์ต่อรูเปิดหน้าแปลน วิเคราะห์ตัวอย่างละ 20 ชิ้น
- ความหนาแน่น จำนวนจากอัตราส่วนน้ำหนักต่อปริมาตรของผลิตภัณฑ์
- แรงกดแตก ใช้เครื่อง Instron texture analyzer หัววัด P50 (50 mm. Dia. Cylinder Aluminum) ความเร็วของหัววัดขณะเคลื่อนที่ลงในเนื้อผลิตภัณฑ์ 5.0 มิลลิเมตรต่อวินาที บันทึกค่าแรงกดสูงสุดที่ทำให้ผลิตภัณฑ์แตกวิเคราะห์ตัวอย่างละ 20 ชิ้น

นำผลิตภัณฑ์ที่ผลิตได้ไปทำการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส ใช้ผู้ทดสอบชิมซึ่งเป็นนักศึกษาปริญญาตรี โท และเอก ของภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จำนวน 50 คน โดยใช้ระบบการให้คะแนนแบบ 9-point hedonic scale ให้ 1 เป็นคะแนนที่ไม่ชอบมากที่สุด จนถึง 9 เป็นคะแนนที่ชอบมากที่สุด ทำการประเมินคุณภาพทางด้าน สี (color) กลิ่น (odor) รสชาติ (taste) ความกรอบ (crispiness) ความเรียบเนียน (smoothness) และความชอบโดยรวม (overall acceptability) โดยวางแผนการทดลองแบบบล็อกสุ่มสมบูรณ์ (Randomized Completely Block Design: RCBD) วิเคราะห์ ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

#### 3.4.4 ศึกษาปริมาณที่เหมาะสมของบัวบกในการผลิตขนมขบเคี้ยวฟองกรอบ

นำรูปแบบบัวบกที่เหมาะสมที่สุดที่ได้จากข้อ 3.4.3 เดิมทดแทนในส่วนผสมของแป้งในสูตรพื้นฐาน โดยใช้ปริมาณแตกต่างกัน 5 ระดับ คือ ร้อยละ 0 2 4 6 และ 8 ใช้สภาวะการผลิตเช่นเดียวกับข้อ 3.4.3 นำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ และประสาทสัมผัส วิเคราะห์ผลทางสถิติ เช่นเดียวกับข้อ 3.4.3 เลือกปริมาณบัวบกที่เหมาะสมที่สุดเพื่อใช้ในการศึกษาขั้นต่อไป

### 3.4.5 ศึกษาสถานะการผลิตที่เหมาะสมของขนมขบเคี้ยวพองกรอบโดยใช้เครื่องเอ็กซ์ทราเตอร์แบบสกรูเดี่ยว

ศึกษาสถานะการผลิตที่เหมาะสมด้วยวิธี Response Surface Methodology วางแผนการทดลองแบบ  $2^2$  Factorial Experiment in Central Composite Design ซึ่งเป็นการศึกษาปัจจัย 2 ปัจจัย คือ ความเร็วรอบสกรู และอุณหภูมิส่วนสุดท้ายของบาร์เรล กำหนดค่าสูงสุดและต่ำสุดเป็น 150-250 รอบต่อนาที และ 160-180 องศาเซลเซียส ตามลำดับ (จตุพร, 2550) นำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ และประสาทสัมผัส นำข้อมูลคุณภาพที่ได้ไปวิเคราะห์ทางสถิติ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Design Expert 6.0 หาสมการถดถอยถดถอรหัส (decoded regression equation) และเลือกสมการถดถอยถดถอรหัสที่มีค่า  $R^2$  (coefficient of determination) มากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 75 นำไปสร้างกราฟพื้นที่ตอบสนอง (response surface graph) และหาสถานะที่เหมาะสมในการผลิต

### 3.4.6 ศึกษาปริมาณที่เหมาะสมของบัวบกแห้งบดในการปรุงรสขนมขบเคี้ยวพองกรอบ

นำผลิตภัณฑ์ขนมขบเคี้ยวพองกรอบเสริมบัวบกที่ได้จากข้อ 3.4.5 ไปทำการปรุงรส โดยพ่นด้วยน้ำมันพืชร้อยละ 8 แล้วโรยผงปรุงรสโนริสาหร่ายร้อยละ 15 ของน้ำหนักผลิตภัณฑ์ (จตุพร, 2550) และใบบัวบกแห้งบดในปริมาณแตกต่างกัน 5 ระดับ คือ ร้อยละ 0 5 10 15 และ 20 ของน้ำหนักผลิตภัณฑ์ ให้เกาเขาดิบบนผลิตภัณฑ์ หลังจากนั้นทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้วยวิธีการจัดลำดับความชอบ (ranking test) โดยใช้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 50 คน แล้วทำการวิเคราะห์ผลด้วยตารางการวิเคราะห์สถิติเกี่ยวกับการเปรียบเทียบผลรวมการจัดลำดับความชอบ (ภาคผนวก จ)

### 3.4.7 ศึกษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์สำเร็จที่ได้เปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ทางการค้า

นำผลิตภัณฑ์ที่โรยด้วยใบบัวบกแห้งบดในปริมาณที่เหมาะสมจากข้อ 3.4.6 ไปเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ทางการค้า 2 ชนิด โดยวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ ได้แก่ สี ความชื้น แร่กรดแตก ความหนาแน่น และอัตราส่วนการพองตัว เช่นเดียวกับการทดลองที่ 3.4.3 วิเคราะห์คุณภาพทางเคมี ได้แก่ เยื่อใยหยาบ สารเอเซียติโคไซด์ สารประกอบฟีนอลทั้งหมด และฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระ เช่นเดียวกับการทดลองที่ 3.4.1 วิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์ ได้แก่ จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (total plate count) ยีสต์และรา (yeast and mold) และโคลิฟอร์ม (coliform) (BAM, 2001)